

# Мышиная модель летального листериоза для оценки эффективности антибактериальных препаратов

А.И.Борзилов, О.В.Коробова, Т.И.Комбарова, Е.С.Перескокова, Е.А.Ганина

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, Оболенск, Московская область, Российская Федерация

*Listeria monocytogenes* – микроорганизм, вызывающий в основном пищевую инфекцию у человека, которая часто заканчивается смертью. Важным свойством листерий является их способность проникать из кишечника в различные органы и ткани макроорганизма, а также преодолевать гематоэнцефалический и плацентарный барьеры. Нередко эффективные *in vitro* против *L. monocytogenes* антибиотики и рекомендованные схемы их применения не дают желаемого лечебного эффекта. Поиск новых антибактериальных препаратов и схем лечения листериоза невозможно проводить без использования животных моделей листериозной инфекции, которые дают объективные данные об их эффективности *in vivo*.

В ходе наших исследований была разработана модель генерализованной листериозной инфекции у мышей линии BALB/c, характеризующаяся 100%-й гибелью животных. Листериозный сепсис вызывали путем внутрибрюшинного введения культур вирулентных (клинических) штаммов *L. monocytogenes* – MA554, BB1 или YIM3. В процессе изучения экспериментального листериоза были определены оптимальные заражающие дозы *L. monocytogenes*, динамика диссеминации клеток патогена в организме мышей, патологические и функциональные изменения в органах и тканях. Пригодность разработанной модели листериозной инфекции у мышей была проверена в экспериментах по лечению. В качестве антибактериальных препаратов использовали ко-тримоксазол и комбинацию ампициллина с гентамицином. Показано, что антибиотикотерапия летального листериоза, начатая в различные периоды генерализации инфекции, защищает мышей от гибели и saniрует их организм от возбудителя инфекции – *L. monocytogenes*, что говорит о пригодности разработанной нами модели. Более позднее начало лечения дает менее выраженный терапевтический эффект

**Ключевые слова:** *Listeria monocytogenes*, мышиная модель, листериоз, сепсис, антибиотикотерапия

**Для цитирования:** Борзилов А.И., Коробова О.В., Комбарова Т.И., Перескокова Е.С., Ганина Е.А. Мышиная модель летального листериоза для оценки эффективности антибактериальных препаратов. Бактериология. 2022; 7(2): 8–21. DOI: 10.20953/2500-1027-2022-2-8-21

## A mouse model of lethal listeria for assessing the efficiency of antibacterial drugs

A.I.Borzilov, O.V.Korobova, T.I.Kombarova, E.S.Pereskokova, E.A.Ganina

State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзор, Obolensk, Moscow Region, Russian Federation

*Listeria monocytogenes* is a microorganism that causes mainly a foodborne infection in humans, which often results in death. An important property of *Listeria* is their ability to penetrate from the intestine into various organs and tissues of the macroorganism, as well as to overcome the blood-brain and placental barriers. Quite often, antibiotics effective against *L. monocytogenes in vitro* and the recommended regimens for their use do not provide the desired therapeutic effect. The search for new antibacterial drugs and treatment regimens for listeriosis cannot be carried out without the use of animal models of listeriosis infection, which provide objective data on their effectiveness *in vivo*.

In our research, a model of generalized listeriosis infection in BALB/c mice was developed, which is characterized by 100% death of animals. Listeriosis sepsis was induced by intraperitoneal injection of cultures of virulent (clinical) strains of *L. monocytogenes* – MA554, BB1 or YIM3. The optimal infecting doses of *L. monocytogenes*, the dynamics of dissemination of pathogen cells in mice, pathological and functional changes in organs and tissues have been determined in the process of experimental listeriosis studying. The suitability of the developed model of listeria infection in mice has been tested in treatment experiments. Co-trimoxazole and a combination of ampicillin with gentamicin has been used as antibacterial drugs. It has been

### Для корреспонденции

Борзилов Александр Иосифович, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории биологических испытаний, ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Адрес: 142279, Московская область, г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24  
Телефон: (4967) 36-0147  
E-mail: borzilov@obolensk.org

Статья поступила 11.04.2022 г., принята к печати 30.06.2022 г.

### For correspondence:

Alexander I. Borzilov, MD, PhD, Leading Researcher of the Biological Testing Laboratory, State Research Center of Applied Microbiology and Biotechnology, Rosпотребнадзор

Address: 24 "Quarter A" Territory, Obolensk, City District Serpukhov, 142279, Russian Federation  
Phone: (4967) 36-0147  
E-mail: borzilov@obolensk.org

The article was received 11.04.2022, accepted for publication 30.06.2022

shown that antibiotic therapy for lethal listeriosis, started at different periods of infection generalization, protects mice from death and sanitizes their body from the infectious agent, *L. monocytogenes*, which indicates the suitability of our model. A later start of treatment gives a less pronounced therapeutic effect.

**Key words:** *Listeria monocytogenes*, mouse model, listeriosis, sepsis, antibiotic therapy

**For citation:** Borzilov A.I., Korobova O.V., Kombarova T.I., Pereskokova E.S., Ganina E.A. A mouse model of lethal listeria for assessing the efficiency of antibacterial drugs. *Bacteriology*. 2022; 7(2): 8–21. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2022-2-8-21

Грамположительные бактерии *Listeria monocytogenes* являются возбудителями листериоза – смертельно опасной для человека пищевой инфекции. Листерии широко распространены в природе и вегетируют в почве [1]. К роду *Listeria* относятся 17 видов, из которых только один (*L. monocytogenes*) является патогенным для человека. Люди чаще всего заражаются через продукты питания: мясные полуфабрикаты, колбасы, сырые молочные продукты, копченую рыбу [2, 3]. По количеству выявленных случаев листериоз значительно уступает сальмонеллезу и кампилобактериозу, но превосходит их по летальности и тяжести клинического течения [4, 5]. Являясь факультативным внутриклеточным патогеном, листерии способны к инвазии из кишечника внутрь организма человека, поражая различные системы и органы. Так, например, клетки *L. monocytogenes* способны преодолевать плацентарный и гематоэнцефалический барьеры, что приводит к инфекциям плода, менингиту или энцефалиту [6, 7].

Важно, что в кишечнике листерии способны формировать биопленки, позволяющие клеткам патогена длительное время персистировать в его просвете [8]. Кишечная нормофлора обеспечивает устойчивость к колонизации против многих патогенов, а опосредованное антибиотиками истощение микробиоты снижает иммунную защиту слизистых оболочек и системную иммунную защиту [9, 10]. Бактерии-продуценты бактериоцинов, такие как лактобактерии кишечной микрофлоры, способны ингибировать *L. monocytogenes* [11–13]. Лечение антибиотиками вызывает дисбиоз кишечника, подвергая хозяина заражению даже при очень низких дозах *L. monocytogenes* [14]. Более высокий уровень заболеваемости наблюдается в случае иммунодефицитных состояний [15, 16], у детей и пожилых людей [17, 18], у беременных женщин [19]. Смертность среди людей, заболевших листериозом, может достигать 30% [6, 20].

Способность листерий к внутриклеточной и внеклеточной персистенции в сочетании с природной устойчивостью к некоторым антибиотикам значительно затрудняет антибиотикотерапию листериоза и ухудшает прогноз лечения [21–23].

Подавляющее большинство штаммов *L. monocytogenes* чувствительны к действию β-лактамовых антибиотиков пенициллинового ряда, аминогликозидов, тетрациклинов, гликопептидов, фторхинолонов последнего поколения, макролидов, карбапенемов, триметоприм/сульфаметоксазола, но устойчивы к цефалоспорином и гентамицину [24–27]. Имеются сведения о том, что количество полирезистентных штаммов листерий, устойчивых к трем и более антибиотикам, не превышает 23% [26].

Традиционные схемы антибиотикотерапии листериоза включают использование пенициллина и ампициллина отдельно или в комбинации с гентамицином [28, 29]. Синергизм

этих препаратов показан в экспериментах *in vitro* [30, 31]. С другой стороны, руководства по эмпирическому лечению рекомендуют использовать антибиотики широкого спектра действия, такие как пиперациллин/тазобактам или карбапенемы. Эти антибиотики также активны против *L. monocytogenes* как *in vitro*, так и *in vivo* [32–34]. Несмотря на эффективность в экспериментах, эти препараты не дают хороших результатов при лечении листериоза у людей [35]. Следует отметить, что некоторые антибиотики, активные в отношении планктонной культуры *L. monocytogenes*, оказываются неэффективными в отношении внутриклеточно персистирующих бактерий [34].

В Российской Федерации при локализованной (железистой) форме листериоза используется один из следующих препаратов: ампициллин (амоксциллин), ко-тримоксазол, эритромицин, доксициклин, левомицетин в средних терапевтических дозах или пенициллин в больших дозах. При генерализованных формах заболевания и инфекции новорожденных рекомендуется сочетание ампициллина или амоксициллина с гентамицином, а также ко-тримоксазол [36, 37].

Для поиска новых противолистерийных препаратов, эффективных комбинаций антибиотиков и схем их применения используют исследования *in vivo*, которые, в отличие от экспериментов *in vitro*, дают более достоверную информацию об эффективности антибактериальных препаратов.

Мышиная модель из-за небольшого размера грызунов и их относительной дешевизны делает возможными крупномасштабные эксперименты. Внутрибрюшинное инфицирование приводит к гибели мышей, подкожное – к сублетальной инфекции, внутрижелудочное – к кишечной инфекции, но при большой заражающей дозе. Так, например, для воспроизведения нелетальной пищевой листериозной инфекции мышам заражают внутрижелудочно культурой *L. monocytogenes* в дозе  $10^8$ – $10^{10}$  КОЕ [38]. Инфицирующая способность штаммов листерий зависит от иммунного статуса модельных животных. Установлено, что заражающая доза штамма *L. monocytogenes* F5817 (серотип 4b) при внутрижелудочном введении иммунокомпетентным мышам линии C57Bl/6j приблизительно на четыре порядка выше, чем для тех же мышам с индуцированным иммунодефицитом [39].

Различные линии мышам отличаются по восприимчивости к *L. monocytogenes*-инфекции. Мыши линии A/J, BALB/c, Ву/J значительно более чувствительны к кишечной листериозной инфекции, чем мыши C57Bl/6. Экспериментальные данные показали, что LD<sub>50</sub> *L. monocytogenes* Scott A (серотип 4b) составляет  $10^6$  КОЕ при внутрижелудочном введении, а для мышам C57Bl/6 –  $10^8$  КОЕ. Различия в составе микробиоты кишечника, способной повлиять на восприимчивость к инфекции, у этих линий мышам отсутствовали [40, 41]. Модель внутрибрюшинного заражения используют для опре-

деления вирулентности культур *L. monocytogenes* на мышах линии BALB/c весом 14–16 г [42].

В наших исследованиях мы разработали модель летальной листериозной инфекции у мышей линии BALB/c. В качестве возбудителя инфекции использовали клинические штаммы листерий – *L. monocytogenes* MA554, *L. monocytogenes* ББ1 или *L. monocytogenes* YIM3 – из Государственной коллекции патогенных микроорганизмов и клеточных культур «ГКПМ-Оболенск». Пригодность разработанных мышинных моделей для оценки эффективности антибактериальных препаратов мы проверили в экспериментах по антибиотикотерапии листериоза.

## Материалы и методы

### Бактериальные культуры

Для моделирования экспериментальной листериозной инфекции использовали три штамма *L. monocytogenes* из Государственной коллекции патогенных микроорганизмов и клеточных культур «ГКПМ-Оболенск». Штамм MA554 (Инв. № В-9071) выделен из ликвора ребенка, больного менингитом; штамм ББ1 (Инв. № В-7495) выделен из патологоанатомического материала умершего цыпленка; штамм YIM3 (Инв. № В-9109) выделен из ликвора взрослого человека, больного менингитом. Культуры листерий чувствительны к ампициллину ( $\leq 1$  мкг/мл), гентамицину (минимальная подавляющая концентрация (МПК)  $\leq 4$  мкг/мл), ко-тримоксазолу (МПК  $\leq 0,06$  мкг/мл по триметоприму).

### Питательные среды, антибиотики

Для культивирования штаммов *L. monocytogenes* использовали плотную питательную среду №1 ГРМ (ФБУН ГНЦ ПМБ, Россия) с добавлением 2% гемолизированной крови. Определение чувствительности бактериальных штаммов к антибактериальным препаратам проводили на питательной среде Мюллера–Хинтона (Hi-Media, Индия). В качестве селективной среды для выявления листерий в фекалиях мышей использовали агаризированную среду ПАЛ с селективной добавкой (ФБУН ГНЦ ПМБ, Россия).

Для лечения экспериментального листериоза использовали ампициллина натриевую соль (PanReac Appli Chem, Испания), гентамицин (KRKA, Словения) и ко-тримоксазол (Biocraft, Германия).

### Лабораторные животные

В экспериментах *in vivo* в качестве модельных животных использовали мышей линии BALB/c (самцы/самки, вес 15–18 г). Модельных животных содержали в стандартных условиях в соответствии с международными нормами и требованиями. Мыши имели свободный доступ к воде и корму (ООО «Лабораторкорм», Москва). Мышей размещали в поликарбонатных клетках Lab Products Inc. (США) группами не более шести животных в каждой и проводили за ними ежедневное ветеринарное наблюдение. Умерших в процессе эксперимента мышей удаляли из клеток по мере обнаружения.

### Заражение лабораторных животных

Бактериальную взвесь для инфицирования животных готовили из ночной агаровой культуры, суспендируя ее в фи-

зиологическом растворе (0,85%-й хлорид натрия). Взвеси доводили до плотности 3,7 по стандарту оптической мутности МакФарланда, что приблизительно соответствует  $2 \times 10^9$  КОЕ/мл. Затем делали последовательные разведения суспензий до достижения необходимой концентрации клеток *L. monocytogenes*. Культуры вводили мышам внутрибрюшинно в объеме 0,5 мл. Для инъекций использовали инсулиновые шприцы с иглой 26–28 G. Контроль количества клеток во взвеси осуществляли путем посева по 0,1 мл из соответствующих разведений исходной взвеси на плотную питательную среду №1 ГРМ с добавлением гемолизированной крови. Посевы инкубировали в течение 24 ч при температуре 37°C.

### Изучение динамики развития листериозного сепсиса

Развитие генерализованной инфекции, вызываемой культурами *L. monocytogenes* MA554, YIM3 и ББ1, изучали на мышах линии BALB/c. Животных инфицировали внутрибрюшинно ночной агаровой культурой листерий в дозе 200 LD<sub>50</sub>. Бактериальные взвеси вводили мышам в объеме 0,5 мл. Среднелетальная доза штамма MA554 составляет  $6,9 \times 10^4$  КОЕ, штамма YIM3 –  $2,0 \times 10^4$  КОЕ, штамма ББ1 –  $7,0 \times 10^4$  КОЕ.

Диссеминацию клеток патогена в организме экспериментальных животных оценивали по степени специфической бактериальной инвазии паренхиматозных органов и уровню бактериемии через 3, 6, 12, 24 и 48 ч после инфицирования. В каждый временной интервал по пять животных подвергали эвтаназии и отбирали селезенку, легкие, мозг и кровь для проведения количественного бактериологического анализа. Кроме того, для выявления функциональных и морфологических изменений внутренних органов в процессе развития острой листериозной инфекции через 48 ч после инфицирования делали общий и биохимический анализ крови. В это же время проводили гистологические исследования внутренних органов мышей – селезенки, легких, печени, головного мозга, регионарных лимфатических узлов и тимуса.

### Клинический анализ крови

Общий анализ крови проводили на автоматическом гематологическом анализаторе PCE-90Vet (High Technology, США) в соответствии с руководством по использованию прибора. Для сбора крови применяли микропробирки с K2-ЭДТА.

### Биохимический анализ крови

Биохимический анализ крови (аланинаминотрансфераза (АЛТ), аспартатаминотрансфераза (АСТ), щелочная фосфатаза (ЩФ), общий белок, глюкоза, креатинин) проводили на полуавтоматическом биохимическом анализаторе StatFax-3300 (Awareness Technology, США) с использованием жидких реактивов UTS (ООО «Юнимед», Россия).

### Бактериологический анализ органов

Животных подвергали эвтаназии методом декапитации, а затем вскрывали для получения образцов органов. Селезенку, печень и легкие растирали в стерильных фарфоровых ступках с добавлением кварцевого песка. В гомогенаты добавляли 1 мл стерильного физиологического раствора и перемешивали.

вали до получения однородной суспензии. Полученные суспензии (цельные и их десятикратные разведения) высевали на поверхность питательного агара. В качестве питательной среды для выявления культуры листерий использовали питательную среду – ПАЛ-агар с селективной добавкой. Посевы инкубировали при температуре 37°C в течение 18–24 ч.

#### Гистологическое исследование органов и тканей

Гистологическое исследование проводили через 48 ч после внутрибрюшинного заражения (на пике сепсиса) мышей культурами *L. monocytogenes* MA554, YIM3 и ББ1. В качестве контролей использовали интактных мышей линии BALB/c. После эвтаназии у животных препарировали селезенку, легкие, печень, головной мозг, регионарные лимфатические узлы и тимус.

Полученные образцы помещали во флакон с 50 мл 4%-го раствора параформа. Через 24 ч экспозиции раствор параформа заменяли свежей порцией. Исследованию подвергали гистологические срезы органов, окрашенные гематоксилином и эозином по стандартной методике. Анализ гистологических препаратов проводили с использованием микроскопа Nikon Eclipse 80i и программы анализа изображения NIS Elements F4.60.00. Определяли наличие признаков воспалительно-некротических изменений в исследуемых образцах.

#### Антибиотикотерапия летальной листериозной инфекции

Летальную листериозную инфекцию воспроизводили на мышах линии BALB/c. Мышей (самцы/самки, 15–18 г) заражали внутрибрюшинно культурами штаммов *L. monocyto-*

*genes* MA554 или *L. monocytogenes* ББ1 в дозе 200 LD<sub>50</sub>. После инфицирования животных делили случайным образом на четыре лечебных и одну контрольную группы по 8 животных в каждой. Мышей из 1-й и 2-й групп лечили ко-тримоксазолом (250 мг/кг) один раз в день внутривентрикулярно. Терапию начинали через 3 и 24 ч соответственно и продолжали 5 суток. Мыши из 3-й и 4-й групп получали комбинированное лечение ампициллином (100 мг/кг) и гентамицином (20 мг/кг) дважды в день. Продолжительность лечения 5 дней. Антибиотикотерапию начинали через 3 и 24 ч после заражения. Группа №5 являлась контрольной и не получала антибактериальных препаратов.

#### Статистические методы

Статистическую обработку результатов (вычисление среднего арифметического значений и стандартного отклонения, двухсторонний критерий Стьюдента) проводили с использованием статистических ресурсов программы Microsoft Excel 2010 и статистической программы Statistica 10.

### Результаты и обсуждение

#### Модель летального листериозного сепсиса у мышей

Результаты бактериологического анализа показали, что штаммы YIM3, MA554 и ББ1 *L. monocytogenes* после внутрибрюшинного введения в дозе 200 LD<sub>50</sub> вызывают у мышей линии BALB/c развитие системной инфекции – сепсиса. Культура *L. monocytogenes* была выявлена у всех животных из селезенки и легких через 3 ч после заражения. Обсемененность селезенки этими штаммами составила 4,21; 6,04 и 5,04 Log<sub>10</sub> КОЕ/г соответственно (табл. 1–3).

Таблица 1. Обсемененность селезенки, легких и крови мышей бактериями *L. monocytogenes* YIM3 в различные сроки острой листериозной инфекции, обусловленной внутрибрюшинным заражением в дозе 200 LD<sub>50</sub>

Время после заражения, ч	Log <sub>10</sub> КОЕ/г (мл) клеток <i>L. monocytogenes</i> YIM3*		
	Селезенка	Легкое	Кровь
3	4,21 ± 0,28 (5/5)**	3,70 ± 0,30 (5/5)	0 (5/5)
6	4,78 ± 0,09 (5/5)	4,25 ± 0,70 (5/5)	1,53 ± 0,39 (3/5)
12	4,76 ± 0,44 (5/5)	4,65 ± 0,28 (5/5)	1,66 ± 0,28 (3/5)
24	5,25 ± 0,34 (5/5)	4,81 ± 0,45 (5/5)	1,65 ± 0,09 (2/5)
48	7,45 ± 0,35 (5/5)	6,44 ± 0,12 (5/5)	2,14 ± 0,14 (5/5)

\*представлены средние значения и стандартное отклонение (n = 5);  
\*\*в дробе указано соотношение количества животных, у которых была выявлена культура *L. monocytogenes* YIM3, к общему количеству животных в группе.

Таблица 2. Обсемененность селезенки, легких и крови мышей бактериями *L. monocytogenes* ББ1 в различные сроки острой листериозной инфекции, обусловленной внутрибрюшинным заражением в дозе 200 LD<sub>50</sub>

Время после заражения, ч	Log <sub>10</sub> КОЕ/г (мл) клеток <i>L. monocytogenes</i> ББ1*		
	Селезенка	Легкое	Кровь
3	5,04 ± 0,53 (5/5)**	4,66 ± 0,82 (5/5)	1,75 ± 0,31 (5/5)
6	4,51 ± 0,83 (5/5)	3,74 ± 0,96 (5/5)	1,69 ± 0,81 (2/5)
12	5,73 ± 1,01 (5/5)	4,72 ± 1,43 (5/5)	2,32 ± 0,19 (3/5)
24	6,60 ± 0,42 (5/5)	5,57 ± 0,57 (5/5)	2,43 ± 0,19 (2/5)
48	7,44 ± 0,36 (5/5)	6,02 ± 0,32 (5/5)	2,76 ± 0,57 (5/5)

\*представлены средние значения и стандартное отклонение (n = 5);  
\*\*в дробе указано соотношение количества животных, у которых была выявлена культура *L. monocytogenes* ББ1, к общему количеству животных в группе.

Таблица 3. Обсемененность селезенки, легких, мозга и крови мышей бактериями *L. monocytogenes* MA554 в различные сроки острой листериозной инфекции, обусловленной внутрибрюшинным заражением в дозе 200 LD<sub>50</sub>

Время после заражения, ч	Log <sub>10</sub> КОЕ/г (мл) клеток <i>L. monocytogenes</i> MA554*			
	Селезенка	Легкое	Мозг	Кровь
3	6,04 ± 0,71 (5/5)**	5,28 ± 0,91 (5/5)	0 (5/5)	1,90 ± 0,47 (5/5)
6	5,95 ± 0,51 (5/5)	5,84 ± 0,46 (5/5)	0 (5/5)	2,36 ± 0,42 (3/5)
12	6,37 ± 0,07 (5/5)	5,89 ± 0,51 (5/5)	2,70 ± 0,57 (2/5)	2,78 ± 0,47 (5/5)
24	7,75 ± 0,57 (5/5)	6,37 ± 0,68 (5/5)	2,89 ± 0,63 (3/5)	3,14 ± 0,32 (5/5)
48	8,05 ± 0,82 (5/5)	6,41 ± 0,69 (5/5)	3,18 ± 0,92 (5/5)	3,60 ± 0,92 (5/5)

\*представлены средние значения и стандартное отклонение (n = 5);  
\*\*в дробе указано соотношение количества животных, у которых была выявлена культура *L. monocytogenes* MA554, к общему количеству животных в группе.

Таблица 4. Результаты клинического анализа крови мышей BALB/c (n = 5) после внутрибрюшинного введения 200 LD<sub>50</sub> культур *L. monocytogenes* штаммов YIM3, ББ1 и МА554 через 48 ч после заражения

Показатель	Ед. изм.	Контроль (интактный)	Штамм <i>L. monocytogenes</i>		
			YIM3	ББ1	МА554
Лейкоциты	×10 <sup>9</sup> /л	8,2 ± 1,7	8,5 ± 2,0	7,7 ± 2,8	6,4 ± 2,9
Лимфоциты	×10 <sup>9</sup> /л	5,9 ± 0,9	1,9 ± 1,1	2,0 ± 1,4	1,0 ± 0,6
Моноциты	×10 <sup>9</sup> /л	0,2 ± 0,1	0,3 ± 0,2	0,2 ± 0,1	0,2 ± 0,1
Гранулоциты	×10 <sup>9</sup> /л	2,1 ± 0,8	6,2 ± 1,4	5,6 ± 2,5	5,2 ± 2,4
Лимфоциты	%	72,4 ± 4,4	22,3 ± 11,3	25,2 ± 12,8	16,3 ± 4,0
Моноциты	%	2,6 ± 0,2	3,4 ± 1,2	3,0 ± 0,8	3,0 ± 1,0
Гранулоциты	%	25,1 ± 4,5	74,4 ± 12,4	71,8 ± 13,6	80,8 ± 4,5
Эритроциты	×10 <sup>12</sup> /л	9,62 ± 0,12	9,41 ± 0,39	8,79 ± 0,43	9,19 ± 0,36
Гемоглобин	г/л	142 ± 9	134 ± 5	127 ± 9	134 ± 5
Гематокрит	%	41,6 ± 2,6	39,5 ± 1,5	39,4 ± 2,9	39,8 ± 1,6
Средний объем эритроцита	фл	43,3 ± 2,3	42,1 ± 2,5	44,9 ± 1,8	43,4 ± 1,2
Среднее содержание гемоглобина в эритроците	пг	14,7 ± 0,8	14,2 ± 0,9	14,4 ± 0,5	14,5 ± 0,2
Средняя концентр. гемоглобина в эритроците	г/л	340 ± 4	338 ± 3	323±3	337 ± 7
Ширина распр. эритроцитов	–	17,9 ± 2,1	17,9 ± 2,7	17,6 ± 1,4	17,5 ± 2,4
Тромбоциты	×10 <sup>9</sup> /л	634 ± 50	627 ± 135	608 ± 163	583 ± 98
Средний объем тромбоцита	фл	4,4 ± 0,2	4,8 ± 0,3	4,9 ± 0,3	4,9 ± 0,3
Ширина распр. тромбоцитов	–	15,8 ± 0,4	15,6 ± 0,2	15,7 ± 0,3	15,7 ± 0,2
Тромбокрит	%	0,278 ± 0,01	0,302 ± 0,070	0,301 ± 0,092	0,283 ± 0,041

Концентрация клеток листерий штаммов YIM3, МА554 и ББ1 в легких составила в среднем 3,7; 5,28 и 4,66 Log<sub>10</sub> КОЕ/г соответственно. В дальнейшем бактериальная инвазия органов увеличивалась и достигала своего максимума через 2 суток после инфицирования. Количество бактерий *L. monocytogenes* в селезенке достигало 7,44–8,05 Log<sub>10</sub> КОЕ/г, а в легочной ткани – 6,02–6,44 Log<sub>10</sub> КОЕ/г.

Бактериемия появлялась у животных через 3 ч после заражения культурами штаммов МА554 и ББ1 и через 6 ч после заражения штаммом YIM3. В процессе развития инфекции количество листерий в крови нарастало. Наиболее выраженная бактериемия была у животных на 2-е сутки инфекции. Концентрация клеток штамма YIM3 составляла 2,14 Log<sub>10</sub> КОЕ/мл, клеток штамма ББ1 – 2,76 Log<sub>10</sub> КОЕ/мл, клеток штамма МА554 – 3,6 Log<sub>10</sub> КОЕ/мл. Количество животных с бактериемией после заражения штаммами МА554 и ББ1 сначала сокращалось, а затем опять достигло 100% к 12 и 48 ч соответственно. Похожий эффект наблюдался и в случае штамма YIM3.

В ходе бактериологических исследований было установлено, что листерии штамма МА554 преодолевали гематоэнцефалический барьер и проникали в головной мозг животных. По крайней мере, через 12 ч после заражения у 2 из 5 животных в посевах из головного мозга была обнаружена культура *L. monocytogenes* МА554. Через 24 ч культура была идентифицирована у 3 из 5 животных, а через 48 ч – у всех инфицированных мышей. Концентрация клеток *L. monocytogenes* МА554 в тканях головного мозга мышей повышалась с 2,70 до 3,18 Log<sub>10</sub> КОЕ/г. В то же время при заражении мышей штаммами ББ1 и YIM3 патоген в головном мозге мышей не был обнаружен в течение всего периода наблюдения (48 ч после инфицирования).

В ходе экспериментов было установлено, что мыши, инфицированные внутрибрюшинно культурами штаммов

*L. monocytogenes*, теряли в весе 1–2 г в ходе развития листериозного сепсиса, что свидетельствует о тяжести заболевания. Следует отметить, что после заражения мышей культурами штаммов YIM3, ББ1 и МА554 в дозе 200 LD<sub>50</sub> гибель животных отмечалась со 2-х по 5-е сутки (рис. 1). У 100% умерших животных был выделен возбудитель инфекции – *L. monocytogenes*.

Общий анализ крови мышей, зараженных внутрибрюшинно культурами *L. monocytogenes*, показал, что через 2 суток у мышей развивается лимфоцитопения – снижение количества лимфоцитов ( $p < 0,05$ ) в крови, и повышается уровень содержания гранулоцитов ( $p < 0,05$ ) (табл. 4). Других статистически значимых изменений гематологических показателей крови у инфицированных животных выявлено не было.

Биохимический анализ сывороток крови мышей, инфицированных внутрибрюшинно штаммами *L. monocytogenes*

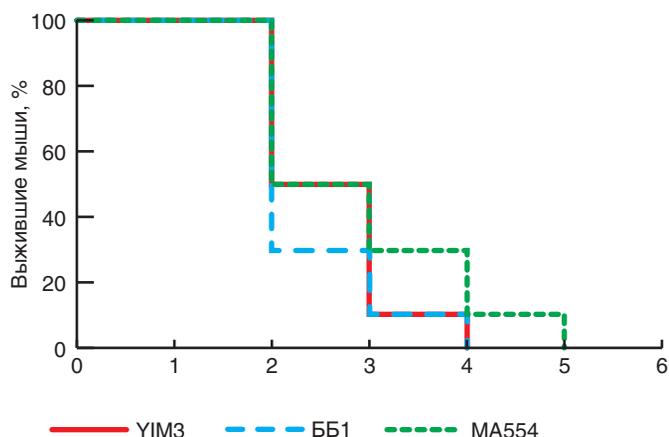


Рис. 1. Выживаемость мышей линии BALB/c (по 10 мышей в группе) после внутрибрюшинного введения 200 LD<sub>50</sub> культур *L. monocytogenes* штаммов YIM3, ББ1 и МА554.

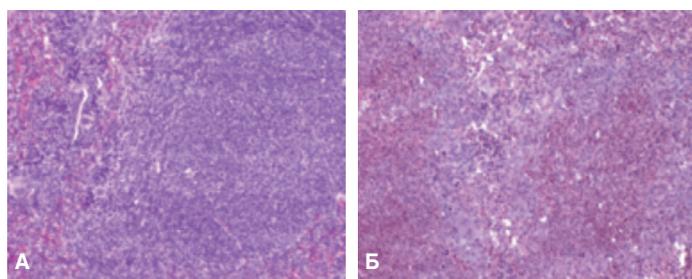
Таблица 5. Результаты биохимического анализа крови мышей BALB/c ( $n = 5$ ) после внутрибрюшинного введения 200 LD<sub>50</sub> культур *L. monocytogenes* штаммов YIM3, ББ1 и МА554 через 48 ч после заражения

Показатель	Ед. изм.	Контроль	Штамм <i>L. monocytogenes</i>		
			YIM3	ББ1	МА554
Общий белок	г/л	83,0 ± 10,7	87,9 ± 6,9	79,5 ± 10,0	81,8 ± 9,0
Глюкоза	ммоль/л	3,57 ± 1,08	3,49 ± 0,68	4,39 ± 1,55	4,13 ± 2,24
АСТ	МЕ/л	115,4 ± 15,6	207,1 ± 76,8	194,9 ± 45,2	199,9 ± 6,29
АЛТ	МЕ/л	50,9 ± 8,5	67,4 ± 2,4	70,5 ± 2,2	66,5 ± 0,3
Креатинин	мкмоль/л	36,8 ± 2,8	47,1 ± 2,7	52,4 ± 5,4	122,2 ± 3,5
ЩФ	МЕ/л	334,1 ± 30,6	144,9 ± 59,5	120,5 ± 71,3	152,6 ± 51,4

YIM3, ББ1 и МА554, который был проведен через 48 ч после заражения, показал отсутствие статистически достоверных изменений уровня общего белка и глюкозы в сыворотке крови по сравнению с контролем (табл. 5). С другой стороны, у мышей наблюдалось статистически значимое ( $p < 0,05$ ) увеличение количества АСТ, АЛТ и креатинина. Уровень ЩФ снижался в 2,1–2,7 раза.

Гистологические исследования внутренних органов (селезенка, печень, паховые лимфатические узлы, головной мозг, легкие) мышей были проведены через 48 ч после внутрибрюшинного заражения штаммами *L. monocytogenes* YIM3, ББ1 и МА554 в дозе 200 LD<sub>50</sub>.

**Штамм *L. monocytogenes* YIM3.** Микроскопическое исследование селезенки у мышей, инфицированных культурой штамма *L. monocytogenes* YIM3, выявило различный характер изменений. У части мышей патологии в селезенке не обнаружено (рис. 2А). Белая пульпа занимает основную площадь в селезенке. Содержит большое количество крупных, часто сливающихся между собой лимфатических фолликулов с обширными активными центрами размножения. Красная пульпа плотно заполнена лимфоцитами. Встречаются небольшие скопления нейтрофилов. У других животных наблюдается выраженная патологическая картина. Лимфатические фолликулы небольших размеров резко ограничены от окружающей красной пульпы. В центральной части лимфатических фолликулов, на месте центров размножения, часто обнаруживаются очаги некроза. Красная пульпа малоклеточная. Основную площадь занимают клетки ретикуломакрофагальной стромы с диффузно расположенными нейтрофилами. Эти клетки подвергаются некрозу с образованием обширных очагов из рыхлого скопления детрита (рис. 2Б). В красной пульпе

Рис. 2. Микрофотографии срезов селезенки мышей BALB/c, инфицированных вбр культурой *L. monocytogenes* YIM3. 48 ч после заражения.

А – Патологии нет. Увеличение  $\times 10$ ; Б – Очаги некроза в центральной части лимфатических фолликулов. Красная пульпа малоклеточная. Увеличение  $\times 10$ .

сохраняется некоторое количество лимфоцитов и плазматических клеток.

Паховые лимфатические узлы всех инфицированных мышей имеют небольшие размеры. Кортикальная зона слабо выражена. Лимфатические фолликулы без центров размножения. В мозговой зоне в результате уменьшения клеточной инфильтрации появляются участки, состоящие только из клеток стромы. Просветы синусов расширены, клетки в них не выявлены (рис. 3).

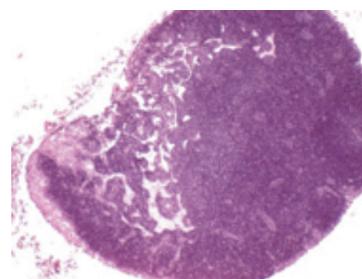
У одного животного из пяти в печени выявлены множественные некрозы. Некротизированные участки имеют округлую форму и представляют собой скопление мелких базофильно окрашенных частиц. Участок некроза резко ограничен от окружающей паренхимы, которая имеет нормальное строение (рис. 4А).

Большинство животных имели изменения в печени, проявляющиеся в виде клеточной инфильтрации. В капиллярах печени обнаруживалось большое количество клеток, среди которых преобладали моноциты и нейтрофилы. Эти клетки часто образовывали небольшие скопления (рис. 4Б).

Микроскопический анализ срезов головного мозга мышей, инфицированных внутрибрюшинно *L. monocytogenes* YIM3, не выявил видимых морфологических изменений. Структура головного мозга соответствовала норме.

В легких мышей, зараженных штаммом *L. monocytogenes* YIM3, не выявлено микроскопических отклонений от нормы. Межальвеолярные перегородки тонкие, без инфильтрации. Просветы альвеол чистые, без экссудата.

**Штамм *L. monocytogenes* ББ1.** При гистологическом исследовании селезенки мышей линии BALB/c, инфицированных культурой *L. monocytogenes* ББ1, было выявлено резкое уменьшение количества лимфоцитов в белой и крас-

Рис. 3. Микрофотографии срезов лимфатического узла мышей BALB/c, инфицированных внутрибрюшинно культурой *L. monocytogenes* YIM3. 48 ч после заражения. Увеличение  $\times 4$ . Центры размножения лимфоцитов отсутствуют. В мозговой зоне уменьшение клеточной инфильтрации.

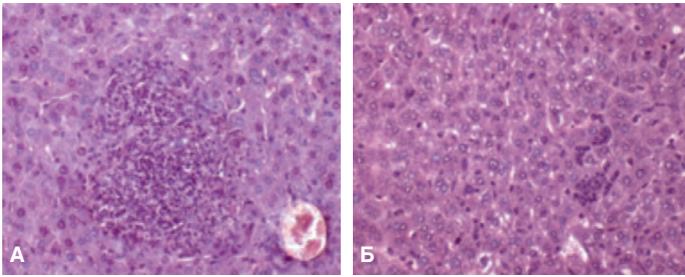


Рис. 4. Микрофотографии срезов печени мышей BALB/c, инфицированных внутрибрюшинно культурой *L. monocytogenes* YIM3. Увеличение  $\times 20$ . 48 ч после заражения.

А – множественные некрозы в ткани печени; Б – клеточная инфильтрация печени клетками (моноцитами, лейкоцитами, лимфоцитами и плазматическими клетками).

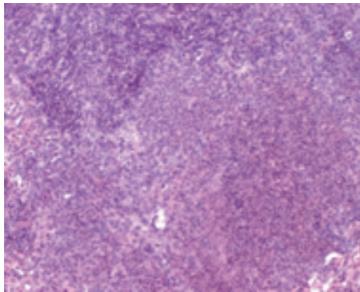


Рис. 5. Микрофотографии срезов селезенки мышей BALB/c, инфицированных в/бр культурой *L. monocytogenes* BB1. Увеличение  $\times 10$ . 48 ч после заражения.

Очаги некроза различных размеров в красной пульпе, состоящие из разрушенных нейтрофилов. Наличие большого количества микробных клеток в некротическом субстрате.

ной пульпе. На месте лимфатических фолликулов сохраняются небольшие скопления лимфоцитов. В красной пульпе преобладают нейтрофилы, которые часто образуют некротические очаги разной величины. Крупные очаги имеют рыхлую структуру, поскольку в них наряду с нейтрофилами имеются разрушенные клетки ретикуломакрофагальной стромы. Среди некротического субстрата находится множество микробных клеток (рис. 5).

Микроскопический анализ срезов печени мышей, инфицированных внутрибрюшинно культурой *L. monocytogenes* BB1, показал наличие большого количества лейкоцитов в печени. В паренхиме изредка встречаются обширные инфильтраты из нейтрофилов (рис. 6А) и некротические очаги (рис. 6Б) из разрушенных клеток инфильтрата и клеток печени (гепатоцитов).

Патология в паховых лимфатических узлах отсутствует. Все зоны пахового лимфатического узла плотно заполнены лимфоцитами. В коре имеются фолликулы с центрами размножения, что свидетельствует о развитии пролиферативных процессов (рис. 7).

В коре полушарий головного мозга выявлены множественные очаговые инфильтраты из круглоядерных клеток (рис. 8).

Микроскопическая картина легких мышей оставалась в пределах нормы. Структурных изменений легочной ткани не наблюдалось.

**Штамм *L. monocytogenes* MA554.** Гистологическая картина селезенки у мышей, инфицированных культурой штамма *L. monocytogenes* MA554, различается по степени выра-

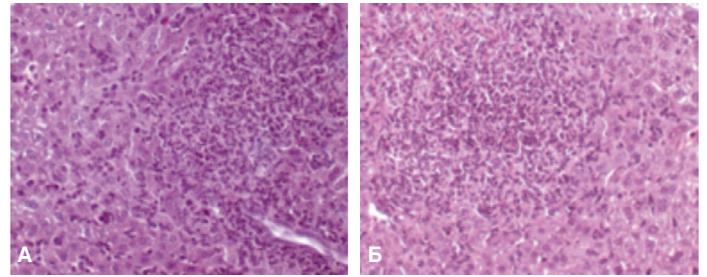


Рис. 6. Микрофотографии срезов печени мышей BALB/c, инфицированных внутрибрюшинно культурой *L. monocytogenes* BB1. Увеличение  $\times 20$ . 48 ч после заражения.

А – Обширные инфильтраты из полиморфноядерных клеток в ткани печени; Б – Очаг некроза.

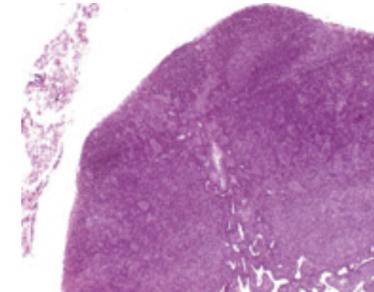


Рис. 7. Микрофотографии срезов лимфатического узла мышей BALB/c, инфицированных внутрибрюшинно культурой *L. monocytogenes* BB1. 48 ч после заражения. Увеличение  $\times 4$ . Патологических изменений нет.

женности патологии. У некоторых животных селезенка имеет выраженную степень развития в ней деструктивных изменений – некрозов (рис. 9А). Некрозы занимают основную площадь в селезенке. Некротизированная ткань представлена множеством мелких базофильно окрашенных частиц – продуктов распада клеток, расположенных между волокон соединительной ткани стромы. Там же обнаруживаются в большом количестве микробные клетки.

У некоторых мышей в селезенке отсутствуют патологические изменения и преобладает картина иммунной перестройки. Белая пульпа состоит из множества лимфатических фолликулов, часто с центрами размножения. Красная пульпа заполнена лимфоцитами и плазматическими клетками (рис. 9Б).

Лимфатические узлы увеличены. Они имеют широкую корковую зону, содержащую фолликулы с центрами размножения. Мякотные тяжи и синусы мозговой зоны заполнены лимфоцитами. Кроме того, в лимфатическом узле развиваются деструктивные процессы. В коре имеются участки делимфотизации, в которых, на фоне сохранившихся компонентов стромы, находятся частички детрита (рис. 10).

Гистологическое исследование печени мышей, инфицированных штаммом *L. monocytogenes* MA554, показало, что у некоторых мышей образуется множество очагов некроза. Большинство очагов состоит из мелких частиц детрита, образовавшегося из некротизированных клеток. В некоторых очагах среди базофильно окрашенных частиц имеются участки гомогенной консистенции светло-розовой окраски (рис. 11). У других животных этой группы изменения ограни-

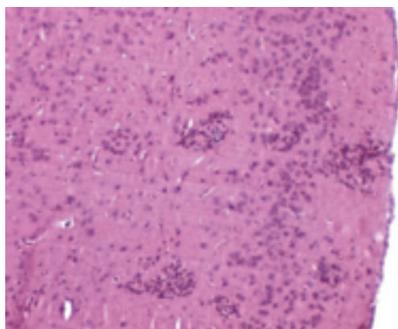


Рис. 8. Микрофотографии срезов головного мозга мышей BALB/c, инфицированных внутрибрюшинно культурой *L. monocytogenes* ББ1. 48 ч после заражения. Инфильтрация мозговой ткани круглоядерными клетками. Увеличение  $\times 10$ .

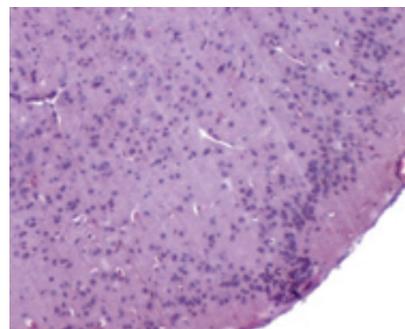


Рис. 12. Микрофотографии срезов головного мозга мышей BALB/c, инфицированных внутрибрюшинно культурой *L. monocytogenes* MA554. Увеличение  $\times 10$ . 48 ч после заражения. Инфильтрация мозговой ткани круглоядерными клетками.

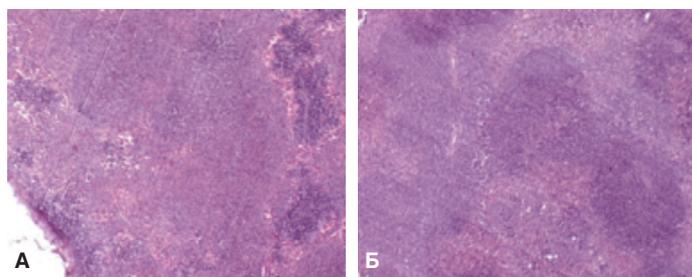


Рис. 9. Микрофотографии срезов селезенки мышей BALB/c, инфицированных в/бр культурой *L. monocytogenes* MA554. 48 ч после заражения.

А – Очаги некроза в центральной части лимфатических фолликулов. Красная пульпа малоклеточная. Увеличение  $\times 4$ ; Б – насыщение красной пульпы лимфоцитами и плазматическими клетками. Увеличение  $\times 4$ .



Рис. 10. Микрофотографии срезов лимфатического узла мышей BALB/c, инфицированных внутрибрюшинно культурой *L. monocytogenes* MA554. 48 ч после заражения. Увеличение  $\times 4$ . В лимфатическом узле на фоне интенсивной инфильтрации и пролиферации лимфоцитов развиваются некротические процессы.

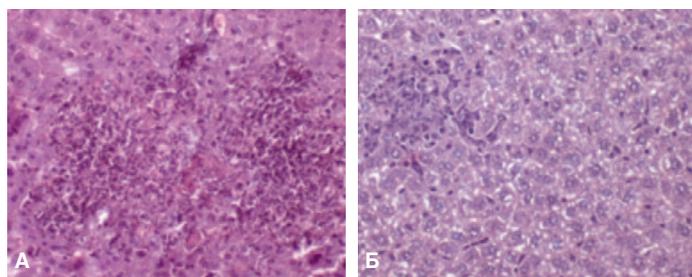


Рис. 11. Микрофотографии срезов печени мышей BALB/c, инфицированных внутрибрюшинно культурой *L. monocytogenes* MA554. Увеличение  $\times 20$ . 48 ч после заражения.

А – Множественные очаги некроза; Б – Лейкоцитарная инфильтрация ткани печени.

чиваются инфильтрацией паренхимы нейтрофилами (рис. 11Б).

В коре полушарий головного мозга у некоторых мышей выявлены диффузные и очаговые инфильтраты из круглоядерных клеток (рис. 12).

В легких не выявлено микроскопических отклонений от нормы.

#### Антибиотикотерапия экспериментальной листериозной инфекции

Пригодность разработанной нами мышинной модели летального листериоза оценивали в эксперименте по антибиотикотерапии инфекции, вызываемой штаммами *L. monocytogenes* MA554 и *L. monocytogenes* ББ1. После внутрибрюшинного заражения мышей линии BALB/c бактериальными взвесями в дозе 200 LD<sub>50</sub> животных делили случайным образом на равные группы по 8 особей и лечили в соответствии со схемой, представленной в табл. 6.

Результаты антибиотикотерапии летальной инфекции, обусловленной штаммом *L. monocytogenes* MA554, показали высокую эффективность раннего начала приема препаратов – через 3 ч после заражения. Все мыши, получавшие ко-тримоксазол или ампициллин с гентамицином ежедневно в течение 5 дней, оставались живыми до конца срока наблюдения (14 суток). Более позднее начало терапии этими антибиотиками обеспечивало выживаемость 75 и 87,5% инфицированных мышей соответственно. Все контрольные (без лечения) животные пали в течение 4 суток после заражения. Результаты антибиотикотерапии экспериментальной листериозной инфекции у мышей представлены на рис. 13.

Из всех павших в ходе эксперимента животных – опытных и контрольных – была выделена культура *L. monocytogenes* MA554. Бактериологический анализ, проведенный на 14-й день после инфицирования, показал отсутствие клеток патогена возбудителя в селезенке, головном мозге и крови мышей.

Антибиотикотерапия сепсиса, обусловленного *L. monocytogenes* ББ1, также была высокоэффективна. Введение ко-тримоксазола или ампициллина с гентамицином через 3 ч после инфицирования дало абсолютный лечебный результат: все мыши из лечебных групп выжили в течение 2 нед. При более позднем назначении этих препаратов выживаемость мышей составила 87,5 и 75% соответ-

№ группы	Кол-во мышей в группе	Препарат	Разовая доза препарата, мг/кг	Введение препаратов после заражения
1	8	Ко-тримоксазол	250 по триметоприму	Внутрижелудочно через 3 ч после заражения, далее 1 раз в сутки, 5 дней
2	8	Ко-тримоксазол	250 по триметоприму	Внутрижелудочно через 24 ч после заражения, далее 1 раз в сутки, 5 дней
3	8	Ампициллин + гентамицин	100 + 20	Подкожно, через 3 ч после заражения, 2 раза в сутки, 5 дней
4	8	Ампициллин + гентамицин	100 + 20	Подкожно, через 24 ч после заражения, 2 раза в сутки, 5 дней
5	8	Без лечения		

ственно. Все выжившие животные не были носителями *L. monocytogenes* ББ1.

100% контрольных животных умерли в период со 2-х по 4-е сутки после заражения. От павших животных была выделена культура листерий из селезенки, головного мозга и крови. Результаты антибиотикотерапии экспериментальной листериозной инфекции у мышей представлены на рис. 14.

Летальные модели инфекций весьма удобны в исследованиях по изучению специфической активности антибиотиков, бактериофагов и других антибактериальных препаратов. Использование таких моделей дает наглядный и убедительный результат при экспериментальном лечении инфекций – выживаемость животных. Мыши являются наиболее привлекательным видом лабораторных животных для моделирования благодаря их невысокой стоимости и доступности. Ранее мы разработали и успешно применили мышинные модели летального сепсиса, обусловленного различными бактериальными агентами [43–54].

В данной статье мы описали модели экспериментальной листериозной инфекции, вызываемые тремя штаммами *L. monocytogenes* – MA554, YIM3 и ББ1. Эти штаммы были отобраны из коллекции патогенных микроорганизмов «ГКПМ-Оболensk» и в предварительных экспериментах показали наибольшую вирулентность для мышей линии BALB/c. Показатель LD<sub>50</sub> этих штаммов при внутрибрюшинном введении составил 6,9 × 10<sup>4</sup> КОЕ, 2,0 × 10<sup>4</sup> КОЕ и 7,0 × 10<sup>4</sup> КОЕ соответственно. Следует отметить, что самки мышей этой линии оказались более чувствительными к листериозной инфекции, чем самцы (данные не представле-

ны). Подобный факт отмечают и другие исследователи, моделирующие листериоз [49]. Аутбредные мыши оказались менее чувствительными к внутрибрюшному заражению, чем мыши линии BALB/c. В предварительных экспериментах было установлено, что внутрибрюшинное введение этим животным культуры *L. monocytogenes* MA554, *L. monocytogenes* YIM3 и *L. monocytogenes* ББ1 в количестве 1 × 10<sup>4</sup> КОЕ не вызывало гибели ни одной беспородной мыши, тогда как у мышей BALB/c наблюдался падеж различной интенсивности. Более высокую чувствительность линейных мышей к листериозной инфекции отмечали и другие исследователи, указывая на мышей BALB/c, C57BL/6, A/J [40, 41]. Высокий уровень вирулентности выбранных нами штаммов не требовал дополнительного увеличения чувствительности к инфицированию модельных животных. Однако для моделирования листериозной инфекции некоторые исследователи используют мышей с индуцированным иммунодефицитом, что позволяет повысить вирулентность штаммов на 4 порядка [39, 50].

Для моделирования острого листериозного сепсиса у мышей мы использовали высокую заражающую дозу *L. monocytogenes* – 200 LD<sub>50</sub>. При внутрибрюшинном введении мышам BALB/c культур штаммов MA554, YIM3 и ББ1 в количестве 1,4 × 10<sup>7</sup> КОЕ, 4 × 10<sup>6</sup> КОЕ и 1,4 × 10<sup>7</sup> КОЕ соответственно все животные погибают в течение 5 суток, а первые случаи падежа наступают через 2 суток. Такая динамика гибели мышей от листериозной инфекции дает возможность начинать экспериментальное лечение инфекции в более отдаленные сроки – через 24 ч после инфицирования.

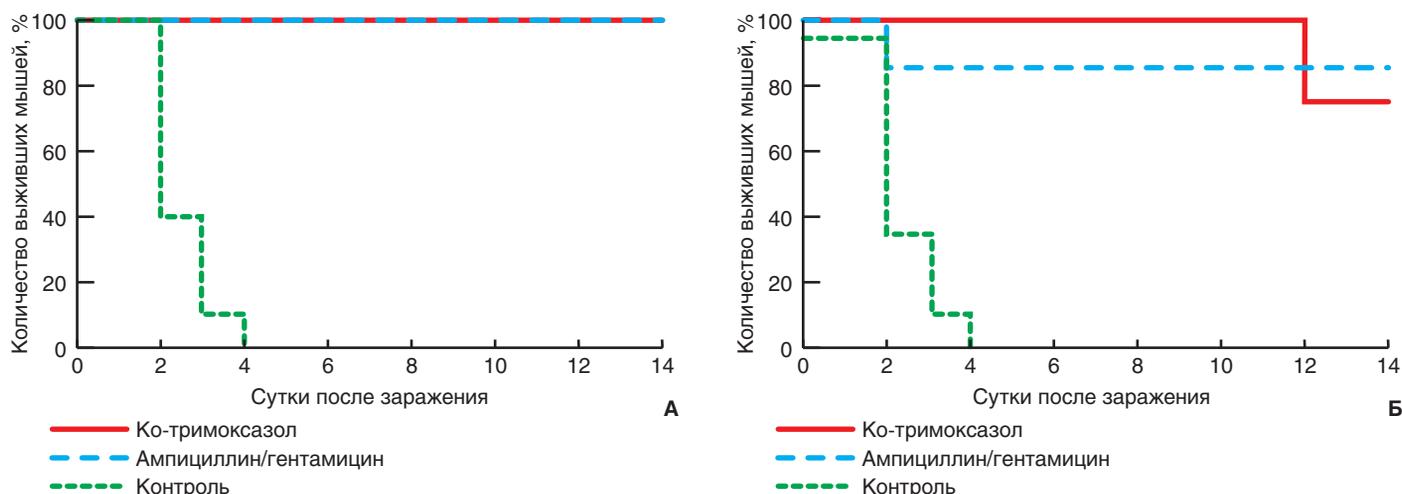


Рис. 13. Лечебная эффективность ко-тримоксазола и ампициллина с гентамицином при лечении летальной инфекции у мышей BALB/c, вызванной внутрибрюшинным введением 200 LD<sub>50</sub> культуры *L. monocytogenes* MA554  
 А – начало лечения через 3 ч после заражения, Б – начало лечения через 24 ч после заражения.

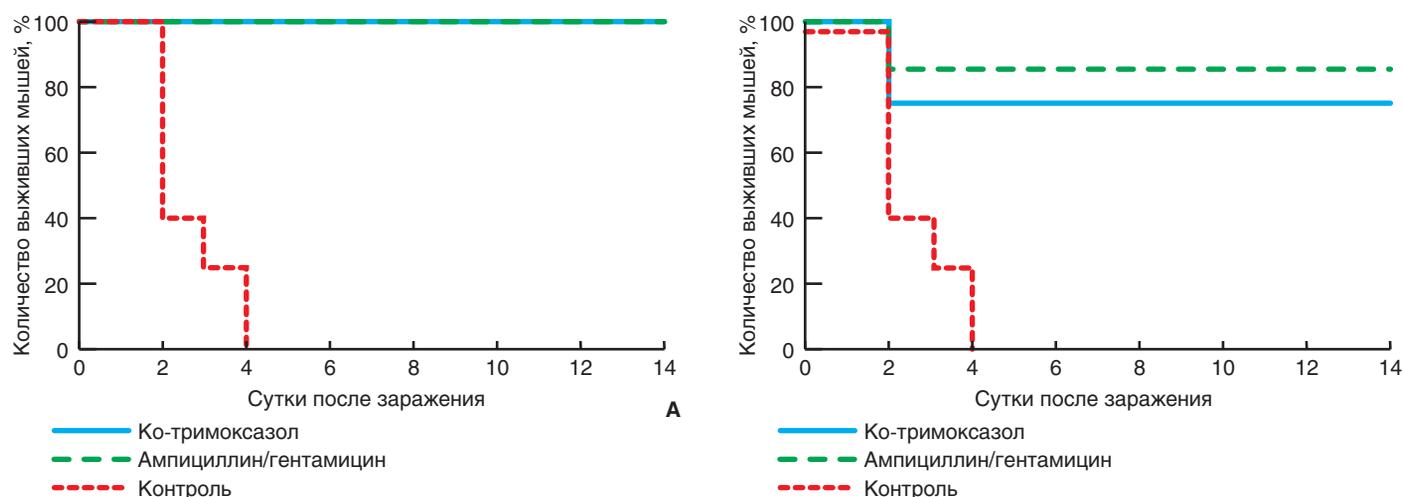


Рис. 14. Лечебная эффективность ко-тримоксазола и ампициллина с гентамицином при лечении летальной инфекции у мышей BALB/c, вызванной внутрибрюшинным введением 200 LD<sub>50</sub> культуры *L. monocytogenes* ББ1. А – начало лечения через 3 ч после заражения, Б – начало лечения через 24 ч после заражения.

Динамика диссеминации бактерий *L. monocytogenes* в организме мышей оказалась очень интенсивной и имела штаммовые различия. Уже через 3 ч после внутрибрюшинного введения клетки листерий всех 3 штаммов в большом количестве обнаруживались в легких и селезенке мышей BALB/c, что говорит о тяжести листериоза. В то же время бактериемия развивалась у мышей только в случае *L. monocytogenes* MA554 и *L. monocytogenes* ББ1. Бактерии *L. monocytogenes* YIM3 обнаруживались в крови мышей только через 6 ч после заражения. Бактериологические исследования выявили высокие инвазивные свойства штамма MA554, который преодолевает гематоэнцефалический барьер. Через 12 ч бактерии штамма MA554 обнаруживаются лишь у некоторых инфицированных мышей, а через сутки – у 100% животных. Интересно, что даже при внутривенном введении листерий инвазия головного мозга случается редко и только при экстремально высокой заражающей дозе [51].

Гематологические исследования показали одинаковые изменения в формуле крови мышей BALB/c, инфицированных всеми изученными нами штаммами листерий: лимфоцитопению и повышение количества моноцитов. Такие результаты, полученные на 2-е сутки после заражения, являются характерными для летальной листериозной инфекции и свидетельствуют о развитии инфекционного процесса у мышей.

Существенные изменения показателей уровня АСТ, АЛТ, ЩФ и креатинина в сыворотке крови мышей BALB/c через 48 ч после заражения свидетельствуют о серьезном нарушении функции печени и почек у инфицированных мышей, которое также связано с развитием выраженной листериозной инфекции.

Пригодность разработанной нами модели летального листериоза у мышей мы оценивали в экспериментах по его лечению. Мышей линии BALB/c инфицировали культурами *L. monocytogenes* MA554 и *L. monocytogenes* ББ1 в дозе 200 LD<sub>50</sub>. В качестве антибактериальных препаратов мы применяли антибиотики и схемы лечения, эффективные против *L. monocytogenes*, – ко-тримоксазол и комбинацию ампициллина с гентамицином [28, 29]. *In vitro* отобранные нами модельные штаммы чувствительны к этим антибиотикам. МПК

ко-тримоксазола, ампициллина и гентамицина для штаммов *L. monocytogenes* MA554 составляют 0,06; 0,03 и 0,25 мкг/мл, а для штамма *L. monocytogenes* ББ1 – 0,06; 0,125 и 0,5 мкг/мл. Суточные дозы ко-тримоксазола (250 мг/кг), ампициллина (200 мг/кг) и гентамицина (40 мг/кг) были эквивалентны человеческим дозам [52]. Экстренное лечение летального листериоза у части мышей начинали в ранние сроки инфекции (через 3 ч после заражения), когда у животных уже наблюдался процесс генерализации инфекции, а бактериальная инвазия селезенки и легких достигала высоких значений – 6,04–5,04 Log<sub>10</sub> КОЕ/г и 5,28–4,66 Log<sub>10</sub> КОЕ/г соответственно. Позднюю антибиотикотерапию начали через сутки после заражения. В это время бактериальная обсемененность селезенки и легких увеличивалась на несколько порядков и достигала 7,75–6,60 Log<sub>10</sub> КОЕ/г и 6,37–5,57 Log<sub>10</sub> КОЕ/г соответственно. Важно, что помимо бактериальной инфильтрации паренхиматозных органов через сутки происходила инвазия головного мозга мышей клетками *L. monocytogenes* MA554 (2,89 Log<sub>10</sub> КОЕ/г), что также свидетельствовало о тяжелом течении инфекции. Следует отметить, что в период с 3 до 24 ч у животных происходила нарастание бактериемии.

Пригодность для практического применения разработанной модели листериозной инфекции была проверена в экспериментах по ее антибиотикотерапии у мышей, инфицированных культурами штаммов MA554 и ББ1 *L. monocytogenes*. Полученные результаты показали, что модель летального листериоза поддается лечению антибиотиками, активными *in vitro* в отношении этих культур. Пятидневный курс лечения инфекции ко-тримоксазолом и комбинацией ампициллина с гентамицином не только обеспечивает выживаемость инфицированных листериозом мышей линии BALB/c, но и полностью санирует организм этих животных от клеток *L. monocytogenes* MA554 и *L. monocytogenes* ББ1. Раннее начало (через 3 ч после заражения) курса антибиотикотерапии дает абсолютный терапевтический эффект – 100%-ю выживаемость и элиминацию патогена из организма животных в лечебных группах. Следует отметить, что на момент начала лечения у всех зараженных животных имелся ярко

выраженный сепсис. Терапия летального листериоза котримоксазолом или ампициллином/гентамицином, отложенная на сутки после инфицирования, предотвращает гибель более 75% мышей BALB/c, инфицированных обоими штаммами. Более низкая эффективность антибиотикотерапии листериозной инфекции, очевидно, связана с тем, что лечение начиналось на фоне выраженного сепсиса и развития полиорганной недостаточности у животных.

### Заключение

В ходе проведенных исследований была разработана и изучена модель летальной листериозной инфекции у мышей, вызываемой вирулентными штаммами YIM3, MA554 и ББ1 *L. monocytogenes*. Внутривентральное введение мышам линии BALB/c культур этих штаммов в дозе 200 LD<sub>50</sub> приводит к гибели 100% животных в течение 2–5 суток после инфицирования. У зараженных животных происходит быстрая (в течение первых 3 ч) генерализация листериозной инфекции с диссеминацией в паренхиматозные органы и головной мозг (только для *L. monocytogenes* MA554). Инфекция характеризуется стремительным развитием некротических изменений в паренхиматозных органах мышей и нарушением функциональной активности печени и почек.

Разработанная нами модель летальной листериозной инфекции у мышей показала свою работоспособность в экспериментах по антибиотикотерапии. Эффективные *in vitro* антибиотики (ко-тримоксазол, ампициллин, гентамицин) дают положительный лечебный результат при курсовом применении и начале лечения через 3 и 24 ч после заражения мышей линии BALB/c летальной дозой (200 LD<sub>50</sub>) культур *L. monocytogenes* MA554 и *L. monocytogenes* ББ1. Раннее начало антибиотикотерапии обеспечивает выживаемость и санацию 100% зараженных мышей, позднее начало – 75–87,5%. Предложенная нами мышьяная модель летальной листериозной инфекции может быть успешно использована для оценки эффективности *in vivo* различных антибактериальных препаратов.

### Информация о финансировании

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

### Financial support

The work was carried out within the framework of the branch program of Rosпотребнадзор.

### Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

### Conflict of interest

Authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

### Литература

1. Carpentier B, Cerf O. Review persistence of *Listeria monocytogenes* in food industry equipment and premises. *Int J Food Microbiol.* 2011;145(1):1-8. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro. 2011.01.005

2. Orsi RH, Bakker HCD, Wiedmann M. *Listeria monocytogenes* lineages: genomics, evolution, ecology, and phenotypic characteristics. *Int J Med Microbiol.* 2011;301(2):79-796. DOI: 10.1016/j.ijmm.2010.05.002
3. Swaminathan B, Gerner-Smith P. The epidemiology of human listeriosis. *Infect.* 2007;9(10):1236-1243. DOI: 10.1016/j.micinf. 2007.05.011
4. Бакулов ИА, Котляров ВМ, Шестиперова ТИ. Эпидемиологические и эпизоотологические аспекты листериоза. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 1994;5:100-105.
5. Mead PS, Slutsker L, Dietz V. Food-related illness and death in the United States. *Emerging Infect Dis.* 1999;5:607-626. DOI: 10.3201/eid0505.990502
6. Lecuit M. Human listeriosis and animal models. *Microbes Infect.* 2007;9:1216-1225. DOI: 10.1016/j.micinf.2007.05.009
7. Doran KS, Banerjee A, Disson O, Lecuit M. Concepts and mechanisms: crossing host. *Cold Spring Harbor Perspect. Med.* 2013;3(7): a010090. DOI: 10.1101/cshperspect.a010090
8. Travier L, Guadagnini S, Gouin E, Dufour A. Act A promotes *Listeria monocytogenes* aggregation, intestinal colonization and carriage. *PLoS Pathog.* 2013;9:e1003131.
9. Caballero S, Pamer EG. Microbiota-mediated inflammation and antimicrobial defense in the intestine. *Annu Rev Immunol.* 2015;33:227-256. DOI: 10.1146/annurev-immunol-032713-120238
10. Becattini S, Taur Y, Pamer EG. Antibiotic-Induced changes in the intestinal microbiota and disease. *Trends Mol Med.* 2016;22(6):458-478. DOI: 10.1016/j.molmed.2016.04.003
11. Zhu WM, Liu W, Wu DQ. Isolation and characterization of a new bacteriocin from *Lactobacillus gasserii* KT7. *J Appl Microbiol.* 2000;88:877-886. DOI: 10.1046/j.1365-2672.2000.01027
12. Corr SC, Li Y, Riedel CU, O'Toole PW, Hill C, Gahan CG. Bacteriocin production as a mechanism for the anti-infective activity of *Lactobacillus salivarius* UCC118. *Proc Natl Acad.* 2007;104(18):7617-7621. DOI: 10.1073/pnas.0700440104
13. Delgado S, O'Sullivan E, Fitzgerald G, Mayo B. Subtractive screening for probiotic properties of *Lactobacillus* species from the human gastrointestinal tract in the search for new probiotics. *J Food Sci.* 2007;72:M310-M315. DOI: 10.1111/j.1750-3841.2007.00479.x
14. Schnupf P, Portnoy DA. Listeriolysin O: a phagosome-specific lysine. *Microbes Infect.* 2007;9(10):1176-1187. DOI: 10.1016/j.micinf. 2007.05.005
15. Becattini S, Littmann ER, Carter RA. Commensal microbes provide first line defense against *Listeria monocytogenes* infection. *J Exp Med.* 2017;214(N):1973-1989. DOI: 10.1084/jem.20170495
16. Louria DB, Hensle T, Armstrong D, Collins HS. Listeriosis complicating malignant disease. A new association. *Ann Intern Med.* 1967;67(2):260-281. DOI: 10.7326/0003-4819-67-2-261
17. Jurado RL, Farley MM, Pereira E, Harvey RC. Increased risk of meningitis and bacteremia due to *Listeria monocytogenes* in patients with human immunodeficiency virus infection. *Clin Infect Dis.* 1993;17(2):224-227. DOI: 10.1093/clinids/17.2.224
18. Goulet V, Hedberg C, Le Monnier A, de Valk H. Increasing incidence of listeriosis in France and other European countries. *Emerg Infect Dis.* 2008;14(5):734-740. DOI: 10.3201/eid1405.071395
19. Koch J, Stark K. Significant increase of listeriosis in Germany-epidemiological patterns 2001–2005. *Euro Surveill.* 2006;11(6):85-88.
20. Southwick FS, Purich DL. Intracellular pathogenesis of listeriosis. *N Engl J Med.* 1996;334(12):770-776. DOI: 10.1056/NEJM199603213341206
21. Orsi RH, Bakker HCD, Wiedmann M. *Listeria monocytogenes* lineages: genomics, evolution, ecology, and phenotypic characteristics. *Int J Med Microbiol.* 2011;301(2):79-796.
22. Pizarro-Cerda J, Kuhbacher A, Cossart P. Entry of *Listeria monocytogenes* in mammalian epithelial cells: an updated view. *Cold Spring Harbor Perspect Med.* 2012;11:a010009. DOI: 10.1101/cshperspect.a010009
23. Gaillard JL, Berche P, Mounier J. *In vitro* model of penetration and intracellular growth of *Listeria monocytogenes* in the human enterocyte-like cell line Caco-

2. Infect Immun. 1987;55(10):2822-2829. DOI: 10.1128/IAI.55.11.2822-2829.1987
24. Smith GA, Marquis H, Jones S, Johnston NC, Portnoy DA, Goldfine H. The two distinct phospholipases C of *Listeria monocytogenes* have overlapping roles in escape from a vacuole and cell-to-cell spread. Infect Immun. 1995;63(11):4231-4237. DOI: 10.1128/IAI.63.11.4231-4237.1995
25. de Almeida RN, Chesca AC, da Silva AD, Cecilia E. Antimicrobial sensitivity of *Listeria monocytogenes* isolated from beef. Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal. 2018;12.
26. Noll M, Kleta S, Al Dahouk S. Antibiotic susceptibility of 259 *Listeria monocytogenes* strains isolated from food, food-processing plants and human samples in Germany Journal of Infection and Public Health. 2018;11(4):572-577. DOI: 10.1016/j.jiph.2017.12.007
27. Conter M, Paludi D, Zanardi E. Characterization of antimicrobial resistance of foodborne *Listeria monocytogenes*. International Journal of Food Microbiology. 2009;128,(3):497-500. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2008.10.018
28. Allerberger F, Wagner M. Listeriosis: a resurgent foodborne infection. Microbiol Infect. 2010;16(1):16-23. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2009.03109.x
29. Davis JA, Jackson CR. Comparative antimicrobial susceptibility of *Listeria monocytogenes*, *L. innocua*, and *L. welshimeri*. Microb Drug Resist. 2009;15(1):27-32. DOI: 10.1089/mdr.2009.0863
30. Azimi PH, Koranyi K, Lindsey KD. *Listeria monocytogenes*: synergistic effects of ampicillin and gentamicin. Am J Clin Pathol. 1979;72:974-977. DOI: 10.1093/ajcp/72.6.974
31. Moellering Jr RC, Medoff G, Leech I. Antibiotic synergism against *Listeria monocytogenes*. Antimicrob Agents Chemother. 1972;1(1):30-34. DOI: 10.1128/aac.1.1.30
32. Nairn K, Shepherd GL, Edwards JR. Efficacy of meropenem in experimental meningitis. J Antimicrob Chemother. 1995;36(SupplA):73-84. DOI: 10.1093/jac/36.suppl\_a.73
33. Carryn S, Van B.F, Mingeot-Leclercq MP, Tulkens PM. Activity of  $\beta$ -lactams (ampicillin, meropenem), gentamicin, azithromycin and moxifloxacin against intracellular *Listeria monocytogenes* in a 24 h THP-1 human macrophage model. J Antimicrob Chemother. 2003;51(Iss.4):1051-1052. DOI: 10.1093/jac/dkg189
34. Hawkins E, Bortolussi R, Issekutz AC. *In vitro* and *in vivo* activity of various antibiotics against *Listeria monocytogenes* type 4b. Clin Invest Med. 1984(7):335-341.
35. Thonnings S, Knudsen JD, Schønheyder HC, Søgaard M, Ostergaard C, Arpi M, et al. Antibiotic treatment and mortality in patients with *Listeria monocytogenes* meningitis or bacteraemia. Clin Microbiol Infect. 2016 Aug;22(8):725-30. DOI: 10.1016/j.cmi.2016.06.006
36. Методические рекомендации №11 от 2001 г. Листериоз: утверждены Председателем Комитета здравоохранения 04 апреля 2001 г.: разработаны инфекционной клинической больницей №1 Комитета здравоохранения, МГМСУ, ИПВИ им. М.П.Чумакова РАМН.
37. Страчунский ЛС, Белоусова ЮБ, Козлова СН. Практическое руководство по антиинфекционной химиотерапии. Под ред. Страчунского Л.С. НИИХ СГМА, 2002, 381 с.
38. Audurier A, Pardon P, Marly J, Lantier F. Experimental infection of mice with *L. monocytogenes* and *L. innocua*. Ann Microbiol. 1980;131B(1):47-57.
39. Golnazarian CA, Donnelly CW, Pintauro SJ, Howard DB. Comparison of infectious dose of *Listeria monocytogenes* F5817 as determined for normal versus compromised C57b1/6j mice. J Food Prot. 1989;52(10):696-701. DOI: 10.4315/0362-028X-52.10.696
40. Czuprynski CJ, Faith NG, Steinberg H. A/J mice are susceptible and C57BL/6 mice are resistant to *Listeria monocytogenes* infection by intragastric inoculation. Infect Immun. 2003;71(2):682-689. DOI: 10.1128/IAI.71.2.682-689.2003
41. Bergmann S, Beard PM, Pasche B, Lienenklaus S, Weiss S, Gahan CG. Influence of internalin A murinisation on host resistance to orally acquired listeriosis in mice. Microbiol. 2013;13(90):2-16. DOI: 10.1186/1471-2180-13-90
42. Ермолаева СА. Роль системной регуляции экспрессии генов патогенности в вирулентности *Listeria monocytogenes*. Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. М., 2004, 44 с.
43. Борзилов АИ, Коробова ОВ, Комбарова ТИ., Мякина ВП, Красильникова ВМ, Верёвкин ВВ, и др. Эффективность бактериофага Рт3 и ципрофлоксацина при лечении экспериментальной протейной инфекции у мышей. Бактериология. 2020;5(1):14-24. DOI: 10.20953/2500-1027-2020-1-14-24
44. Борзилов АИ, Коробова ОВ, Комбарова ТИ, Абаев ИВ. Эффективность бактериофага SA18 при лечении экспериментальной стафилококковой инфекции у мышей линии BALB/c. Инфекция и иммунитет. 2017;5:906.
45. Борзилов АИ, Мякина ВП, Коробова ОВ, Комбарова ТИ, Красильникова ВМ, Веревкин ВВ, Воложанцев НВ. Оценка лечебно-профилактической эффективности бактериофага *Klebsiella pneumoniae* vB\_Krnp\_KpV289 на модели острого сепсиса у мышей. Бактериология. 2017;2(1):73-77. DOI: 10.20953/2500-1027-2017-1-73-77
46. Борзилов АИ, Коробова ОВ, Комбарова ТИ, Мякина ВП, Красильникова ВМ, Верёвкин ВВ, Воложанцев НВ. Сравнительное изучение антибактериальной активности бактериофага PA5 и полимиксина на модели летальной синегнойной инфекции у мышей. Бактериология. 2019;4(1):34-43. DOI: 10.20953/2500-1027-2019-1-34-43
47. Борзилов АИ, Коробова ОВ, Комбарова ТИ, Денисенко ЕА, Верёвкин ВВ, Ганина ЕА, Воложанцев НВ. Эффективность фаготерапии экспериментальной эшерихиозной инфекции у мышей. Бактериология. 2021;6(2):8-22. DOI: 10.20953/2500-1027-2021-2-8-22
48. Volozhantsev NV, Borzilov AI, Komisarova EV, Krasilnikova VM, Verevkin VV, Shpirt AM, et al. Characterization and therapeutic potential of bacteriophage-encoded polysaccharide depolymerases with  $\beta$  galactosidase activity against *Klebsiella pneumoniae* K57 capsular type. Antibiotics (Basel). 2020 Oct 25;9(11):732. DOI: 10.3390/antibiotics9110732
49. Bou Ghanem EN, Jones GS, Myers-Morales T, Patil PN, Hidayatullah AN, D'Orazio SEF. Inla promotes dissemination of *Listeria monocytogenes* to the mesenteric lymph nodes during food borne infection of mice. PLoS Pathog. 2012;8:e1003015. DOI: 10.1371/journal.ppat.1003015
50. Hof H, Emmerling P. Murine Model for Therapy of Listeriosis in the Compromised Host. III. The Effect of Rifampicin. Chemotherapy, 1984;30:125-130. DOI: 10.1159/000238258
51. Altimira J, Prats N, Lopez S, Domingo M, Briones V, Dominguez L, Marco A. Repeated oral dosing with *Listeria monocytogenes* in mice as a model of central nervous system listeriosis in man. J Comp Pathol. 1999;121:117-125. DOI: 10.1053/jcpra.1999.0303
52. Гуськова ТА. Токсикология лекарственных средств. М., 2003, 153 с.

## References

1. Carpentier B, Cerf O. Reviewe persistence of *Listeria monocytogenes* in food industry equipment and premises. Int J Food Microbiol. 2011;145(1):1-8. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2011.01.005
2. Orsi RH, Bakker HCD, Wiedmann M. *Listeria monocytogenes* lineages: genomics, evolution, ecology, and phenotypic characteristics. Int J Med Microbiol, 2011;301(2):79-796. DOI: 10.1016/j.ijmm.2010.05.002
3. Swaminathan B, Gerner-Smidt P. The epidemiology of human listeriosis. Infect. 2007;9(10):1236-1243. DOI: 10.1016/j.micinf.2007.05.011
4. Bakulov IA, Kotlyarov VM, Shestiperova TI. Epidemiological and epizootological aspects of listeriosis. Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology. 1994;5:100-105. (In Russian).
5. Mead PS, Slutsker L, Dietz V. Food-related illness and death in the United States. Emerging Infect Dis. 1999;5:607-626. DOI: 10.3201/eid0505.990502
6. Lecuit M. Human listeriosis and animal models. Microbes Infect. 2007;9:1216-1225. DOI: 10.1016/j.micinf.2007.05.009

7. Doran KS, Banerjee A, Disson O, Lecuit M. Concepts and mechanisms: crossing host. *Cold Spring Harbor Perspect. Med.* 2013;3(7): a010090. DOI: 10.1101/cshperspect.a010090
8. Travier L, Guadagnini S, Gouin E, Dufour A. Act A promotes *Listeria monocytogenes* aggregation, intestinal colonization and carriage. *PLoS Pathog.* 2013;9:e1003131.
9. Caballero S, Pamer EG. Microbiota-mediated inflammation and antimicrobial defense in the intestine. *Annu Rev Immunol.* 2015;33:227-256. DOI: 10.1146/annurev-immunol-032713-120238
10. Becattini S, Taur Y, Pamer EG. Antibiotic-Induced changes in the intestinal microbiota and disease. *Trends Mol Med.* 2016;22(6):458-478. DOI: 10.1016/j.molmed.2016.04.003
11. Zhu WM, Liu W, Wu DQ. Isolation and characterization of a new bacteriocin from *Lactobacillus gasserii* KT7. *J Appl Microbiol.* 2000;88:877-886. DOI: 10.1046/j.1365-2672.2000.01027
12. Corr SC, Li Y, Riedel CU, O'Toole PW, Hill C, Gahan CG. Bacteriocin production as a mechanism for the anti-infective activity of *Lactobacillus salivarius* UCC118. *Proc Natl Acad.* 2007;104(18):7617-7621. DOI: 10.1073/pnas.0700440104
13. Delgado S, O'Sullivan E, Fitzgerald G, Mayo B. Subtractive screening for probiotic properties of *Lactobacillus* species from the human gastrointestinal tract in the search for new probiotics. *J Food Sci.* 2007;72:M310-M315. DOI: 10.1111/j.1750-3841.2007.00479.x
14. Schnupf P, Portnoy DA. Listeriolysin O: a phagosome-specific lysine. *Microbes Infect.* 2007;9(10):1176-1187. DOI: 10.1016/j.micinf. 2007.05.005
15. Becattini S, Littmann ER, Carter RA. Commensal microbes provide first line defense against *Listeria monocytogenes* infection. *J Exp Med.* 2017;214(N):1973-1989. DOI: 10.1084/jem.20170495
16. Louria DB, Hensle T, Armstrong D, Collins HS. Listeriosis complicating malignant disease. A new association. *Ann Intern Med.* 1967;67(2):260-281. DOI: 10.7326/0003-4819-67-2-261
17. Jurado RL, Farley MM, Pereira E, Harvey RC. Increased risk of meningitis and bacteremia due to *Listeria monocytogenes* in patients with human immunodeficiency virus infection. *Clin Infect Dis.* 1993;17(2):224-227. DOI: 10.1093/clinids/17.2.224
18. Goulet V, Hedberg C, Le Monnier A, de Valk H. Increasing incidence of listeriosis in France and other European countries. *Emerg Infect Dis.* 2008;14(5):734-740. DOI: 10.3201/eid1405.071395
19. Koch J, Stark K. Significant increase of listeriosis in Germany-epidemiological patterns 2001–2005. *Euro Surveill.* 2006;11(6):85-88.
20. Southwick FS, Purich DL. Intracellular pathogenesis of listeriosis. *N Engl J Med.* 1996;334(12):770-776. DOI: 10.1056/NEJM199603213341206
21. Orsi RH, Bakker HCD, Wiedmann M. *Listeria monocytogenes* lineages: genomics, evolution, ecology, and phenotypic characteristics. *Int J Med Microbiol.* 2011;301(2):79-796.
22. Pizarro-Cerda J, Kuhbacher A, Cossart P. Entry of *Listeria monocytogenes* in mammalian epithelial cells: an updated view. *Cold Spring Harbor Perspect Med.* 2012;11:a010009. DOI: 10.1101/cshperspect.a010009
23. Gaillard JL, Berche P, Mounier J. *In vitro* model of penetration and intracellular growth of *Listeria monocytogenes* in the human enterocyte-like cell line Caco-2. *Infect Immun.* 1987;55(10):2822-2829. DOI: 10.1128/IAI.55.11.2822-2829.1987
24. Smith GA, Marquis H, Jones S, Johnston NC, Portnoy DA, Goldfine H. The two distinct phospholipases C of *Listeria monocytogenes* have overlapping roles in escape from a vacuole and cell-to-cell spread. *Infect Immun.* 1995;63(11):4231-4237. DOI: 10.1128/IAI.63.11.4231-4237.1995
25. de Almeida RN, Chesca AC, da Silva AD, Cecilia E. Antimicrobial sensitivity of *Listeria monocytogenes* isolated from beef. *Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal.* 2018;12.
26. Noll M, Kleta S, Al Dahouk S. Antibiotic susceptibility of 259 *Listeria monocytogenes* strains isolated from food, food-processing plants and human samples in Germany. *Journal of Infection and Public Health.* 2018;11(4):572-577. DOI: 10.1016/j.jiph.2017.12.007
27. Conter M, Paludi D, Zanardi E. Characterization of antimicrobial resistance of foodborne *Listeria monocytogenes*. *International Journal of Food Microbiology.* 2009;128,(3):497-500. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2008.10.018
28. Allerberger F, Wagner M. Listeriosis: a resurgent foodborne infection. *Microbiol Infect.* 2010;16(1):16-23. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2009.03109.x
29. Davis JA, Jackson CR. Comparative antimicrobial susceptibility of *Listeria monocytogenes*, *L. innocua*, and *L. welshimeri*. *Microb Drug Resist.* 2009;15(1):27-32. DOI: 10.1089/mdr.2009.0863
30. Azimi PH, Koranyi K, Lindsey KD. *Listeria monocytogenes*: synergistic effects of ampicillin and gentamicin. *Am J Clin Pathol.* 1979;72:974-977. DOI: 10.1093/ajcp/72.6.974
31. Moellering Jr RC, Medoff G, Leech I. Antibiotic synergism against *Listeria monocytogenes*. *Antimicrob Agents Chemother.* 1972;1(1):30-34. DOI: 10.1128/aac.1.1.30
32. Nairn K, Shepherd GL, Edwards JR. Efficacy of meropenem in experimental meningitis. *J Antimicrob Chemother.* 1995;36(SupplA):73-84. DOI: 10.1093/jac/36.suppl\_a.73
33. Carryn S, Van B.F, Mingeot-Leclercq MP, Tulkens PM. Activity of  $\beta$ -lactams (ampicillin, meropenem), gentamicin, azithromycin and moxifloxacin against intracellular *Listeria monocytogenes* in a 24 h THP-1 human macrophage model. *J Antimicrob Chemother.* 2003;51(Iss.4):1051-1052. DOI: 10.1093/jac/dkg189
34. Hawkins E, Bortolussi R, Issekutz AC. *In vitro* and *in vivo* activity of various antibiotics against *Listeria monocytogenes* type 4b. *Clin Invest Med.* 1984(7):335-341.
35. Thonnings S, Knudsen JD, Schonheyder HC, Sogaard M, Ostergaard C, Arpi M, et al. Antibiotic treatment and mortality in patients with *Listeria monocytogenes* meningitis or bacteraemia. *Clin Microbiol Infect.* 2016 Aug;22(8):725-30. DOI: 10.1016/j.cmi.2016.06.006
36. Methodological recommendations No 11 of 2001 Listeriosis: approved by the Chairman of the Health Committee on April 04, 2001: developed by the Infectious Clinical Hospital No 1 of the Health Committee, MGMSU, M.P. Chumakov IPVI RAMS. (In Russian).
37. Strachunsky LS, Belousova Yu B, Kozlova SN. Practical guide to anti-infective chemotherapy. Edited by Strachunsky LS. 2002, 381 p. (In Russian).
38. Audurier A, Pardon P, Marly J, Lantier F. Experimental infection of mice with *L. monocytogenes* and *L. innocua*. *Ann Microbiol.* 1980;131B(1):47-57.
39. Golnazarian CA, Donnelly CW, Pintauro SJ, Howard DB. Comparison of infectious dose of *Listeria monocytogenes* F5817 as determined for normal versus compromised C57b1/6j mice. *J Food Prot.* 1989;52(10):696-701. DOI: 10.4315/0362-028X-52.10.696
40. Czuprynski CJ, Faith NG, Steinberg H. A/J mice are susceptible and C57BL/6 mice are resistant to *Listeria monocytogenes* infection by intragastric inoculation. *Infect Immun.* 2003;71(2):682-689. DOI: 10.1128/IAI.71.2.682- 689.200
41. Bergmann S, Beard PM, Pasche B, Lienenklaus S, Weiss S, Gahan CG. Influence of internalin A murinisation on host resistance to orally acquired listeriosis in mice. *Microbiol.* 2013;13(90):2-16. DOI: 10.1186/1471-2180-13-90
42. Ermolaeva SA. The role of systemic regulation of pathogenicity gene expression in *Listeria monocytogenes* virulence. Diss. Moscow, 2004, 44 p. (In Russian).
43. Borzilov AI, Korobova OV, Kombarova TI, Myakinina VP, Krasilnikova VM, Verevkin VV, et al. Effectiveness of bacteriophage Pm3 and ciprofloxacin in treating experimental proteus infections in mice. *Bacteriology.* 2020;5(1):14-24. DOI: 10.20953/2500-1027-2020-1-14-24 (In Russian).
44. Borzilov AI, Korobova OV, Kombarova TI, Abaev IV. Effektivnost' bakteriofaga SA18 pri lechenii eksperimental'noi stafilokokkovoi infektsii u myshei linii BALB/s. *Russian Journal of Infection and Immunity.* 2017;5:906. (In Russian).
45. Borzilov AI, Myakinina VP, Korobova OV, Kombarova TI, Krasilnikova VM, Verevkin VV, Volozhantsev NV. Evaluation of preventive and therapeutic

- efficacy of *Klebsiella pneumoniae* bacteriophage vB\_Kpnp\_KpV289 on the model of acute sepsis in mice. *Bacteriology*. 2017;2(1):73-77. DOI: 10.20953/2500-1027-2017-1-73-77 (In Russian).
46. Borzilov AI, Korobova OV, Kombarova TI, Myakinina VP, Krasilnikova VM, Verevkin VV, Volozhantsev NV. Comparative study of antibacterial activities of bacteriophage PA5 and polymyxin on the model of lethal pseudomonas infection in mice. *Bacteriology*. 2019;4(1):34-43. DOI: 10.20953/2500-1027-2019-1-34-43 (In Russian).
47. Borzilov AI, Korobova OV, Kombarova TI, Denisenko EA, Verevkin VV, Ganina EA, Volozhantsev NV. Phage therapy efficiency of experimental escherichiosis infection in mice. *Bacteriology*. 2021;6(2):8-22. DOI: 10.20953/2500-1027-2021-2-8-22 (In Russian).
48. Volozhantsev NV, Borzilov AI, Komisarova EV, Krasilnikova VM, Verevkin VV, Shpirt AM, et al. Characterization and therapeutic potential of bacteriophage-encoded polysaccharide depolymerases with  $\beta$  galactosidase activity against *Klebsiella pneumoniae* K57 capsular type. *Antibiotics (Basel)*. 2020 Oct 25;9(11):732. DOI: 10.3390/antibiotics9110732.
49. Bou Ghanem EN, Jones GS, Myers-Morales T, Patil PN, Hidayatullah AN, D'Orazio SEF. Inla promotes dissemination of *Listeria monocytogenes* to the mesenteric lymph nodes during food borne infection of mice. *PLoS Pathog*. 2012;8:e1003015. DOI: 10.1371/journal.ppat.1003015
50. Hof H, Emmerling P. Murine Model for Therapy of Listeriosis in the Compromised Host. III. The Effect of Rifampicin. *Chemotherapy*. 1984;30:125-130. DOI: 10.1159/000238258
51. Altimira J, Prats N, Lopez S, Domingo M, Briones V, Dominguez L, Marco A. Repeated oral dosing with *Listeria monocytogenes* in mice as a model of central nervous system listeriosis in man. *J Comp Pathol*. 1999;121:117-125. DOI: 10.1053/jcpa.1999.0303
52. Guskova TA. Toxicology of medical preparations. Moscow, 2003, 153 p. (In Russian).

#### Информация об авторах:

Коробова Ольга Васильевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории биологических испытаний ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Комбарова Татьяна Ивановна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории биологических испытаний ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Перескокова Евгения Сергеевна, младший научный сотрудник лаборатории биологических испытаний ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Ганина Елена Анатольевна, научный сотрудник лаборатории нанобиотехнологии ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

#### Information about authors:

Olga V. Korobova, PhD (Biological Sciences), Senior Researcher of the Biological Testing Laboratory, State Research Center of Applied Microbiology and Biotechnology, Rosпотребнадзор

Tatiana I. Kombarova, PhD (Biological Sciences), Senior Researcher of the Biological Testing Laboratory, State Research Center of Applied Microbiology and Biotechnology, Rosпотребнадзор

Evgenia S. Pereskokova, Junior Researcher of the Biological Testing Laboratory, State Research Center of Applied Microbiology and Biotechnology, Rosпотребнадзор

Elena A. Ganina, Researcher of the Biological Testing Laboratory, State Research Center of Applied Microbiology and Biotechnology, Rosпотребнадзор

## НОВОСТИ НАУКИ

### Клетки кишечника и молочнокислые бактерии совместно защищают от кандидоза

Дисбактериоз кишечной микробиоты может инициировать чрезмерный рост симбиотических видов *Candida* – основного предрасполагающего фактора к диссеминированному кандидозу. Комменсальные бактерии, такие как *Lactobacillus rhamnosus*, могут противодействовать патогенности *Candida albicans*. Исследовано взаимодействие между *C. albicans*, *L. rhamnosus* и эпителиальными клетками кишечника путем интеграции транскрипционного и метаболического профилирования и обратной генетики. Нецелевая метаболомика и моделирование *in silico* показывают, что эпителиальные клетки кишечника метаболически способствуют росту бактерий, что приводит к выработке бактериями противовирусных соединений. Кроме того, рост бактерий изменяет метаболическую среду, включая удаление излюбленных источников питательных веществ *C. albicans*. Это сопровождается транскрипционными и метаболическими изменениями у *C. albicans*, включая измененную экспрессию генов, связанных с вирулентностью. Наши результаты показывают, что колонизация кишечника бактериями может противодействовать *C. albicans*, изменяя метаболическую среду, вызывая метаболические адаптации, которые снижают патогенность грибов.



Alonso-Roman R, Last A, Mirhakkak MH, et al. *Lactobacillus rhamnosus* colonisation antagonizes *Candida albicans* by forcing metabolic adaptations that compromise pathogenicity. *Nat Commun*. 2022;13:3192. DOI: 10.1038/s41467-022-30661-5